

# **WATER SOLUBLE PRODRUGS OF SECONDARY AND TERTIARY AMINE CONTAINING DRUGS AND METHODS OF MAKING THEREOF**

Publication number: JP2001527083 (T)

Publication date: 2001-12-25

Inventor(s):

Applicant(s):

Classification:

- international: **A61K3/00; A61K31/66; C07F9/09; C07F9/6509; C07F9/655;  
C07F9/6561; A61K9/00; A61K31/66; C07F9/00; (IPC1-  
7): A61K31/66; A61K9/00; C07F9/09**

- European: **C07F9/09A1; C07F9/09A1; C07F9/6509B4E; C07F9/655M60;  
C07F9/6561**

Application number: JP2000052652T 19981230

Priority number(s): US19970070093P 19971231; WO1998US27659 19981230

Also published as:

 **WO9933846 (A2)**

 **WO9933846 (A3)**

 **NZ505515 (A)**

 **EP1051181 (A2)**

 **EP1051181 (B1)**

[more >>](#)

Abstract not available for JP 2001527083 (T)

Abstract of corresponding document: **WO 9933846 (A2)**

The present invention is drawn to water soluble derivatives of aliphatic and aromatic secondary and tertiary amine containing drugs. The present invention is further drawn to methods of making water soluble derivatives of aliphatic and aromatic secondary and tertiary amine containing drugs.

.....  
Data supplied from the **espacenet** database — Worldwide

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表2001-527083

(P2001-527083A)

(43) 公表日 平成13年12月25日 (2001.12.25)

(51) Int.Cl. <sup>7</sup>	識別記号	F I	テーマコード* (参考)
A 6 1 K 31/66		A 6 1 K 31/66	4 C 0 7 6
9/00		9/00	4 C 0 8 6
C 0 7 F 9/09		C 0 7 F 9/09	J 4 H 0 5 0
			V

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 61 頁)

(21) 出願番号 特願2000-526522(P2000-526522)  
 (86) (22) 出願日 平成10年12月30日 (1998.12.30)  
 (85) 翻訳文提出日 平成12年6月30日 (2000.6.30)  
 (86) 国際出願番号 P C T / U S 9 8 / 2 7 6 5 9  
 (87) 国際公開番号 W O 9 9 / 3 3 8 4 6  
 (87) 国際公開日 平成11年7月8日 (1999.7.8)  
 (31) 優先権主張番号 6 0 / 0 7 0 , 0 9 3  
 (32) 優先日 平成9年12月31日 (1997.12.31)  
 (33) 優先権主張国 米国 (U S)

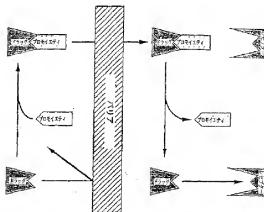
(71) 出願人 ザ・ユニバーシティ・オブ・カンザス  
 アメリカ合衆国カンザス州66045, ローレンス,  
 ストロング・ホール 226  
 (72) 発明者 ステラ, ヴァレンティノ  
 アメリカ合衆国カンザス州66049, ローレンス,  
 ローレンス・アベニュー 1324  
 (72) 発明者 クライス, ジェフリー・ビー  
 アメリカ合衆国カンザス州66045, ローレンス,  
 ストロング・ホール 222  
 (72) 発明者 ゲオルグ, グンダ・イングリッド  
 アメリカ合衆国カンザス州66045, ローレンス,  
 ストロング・ホール 222  
 (74) 代理人 弁理士 社本 一夫 (外4名)

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 第二級および第三級アミン含有薬剤の水溶性プロドラッグおよびその製造方法

(57) 【要約】

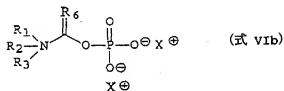
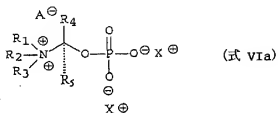
本発明は脂肪族および芳香族第二級および第三級アミン含有薬剤の水溶性誘導体に関する。本発明はさらに、脂肪族および芳香族第二級および第三級アミン含有薬剤の水溶性誘導体を製造する方法にも関している。



## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 次式VIaまたはVIbで表される第三級アミン含有薬剤のN-ホスホリルオキシメチルプロドラッグ；

## 【化1】



式中、R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>およびR<sub>3</sub>は親第三級または第二級アミンを含む置換基であり、R<sub>4</sub>およびR<sub>5</sub>は各々有機または無機残基であり、R<sub>6</sub>は炭素スベーパーに二重結合で結合している基であり、およびXはカチオン有機または無機塩である。

【請求項2】 R<sub>4</sub>およびR<sub>5</sub>が各々水素、直鎖置換もしくは無置換脂肪族基、置換もしくは無置換芳香族および置換もしくは無置換環式基から成る群より選択され、ここでR<sub>4</sub>およびR<sub>5</sub>は連結して環を形成してもよくまたR<sub>4</sub>およびR<sub>5</sub>は一つまたはそれ以上のヘテロ原子を含んでもよい、請求項1に記載のプロドラッグ。

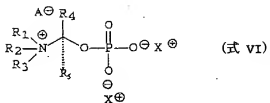
【請求項3】 R<sub>4</sub>およびR<sub>5</sub>が各々-CH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、フェニル、ベンジルおよびシクロヘキサンから成る群より選択される請求項2に記載のプロドラッグ。

【請求項4】 Xがナトリウム、カリウム、アンモニウムおよび他の医薬として受容可能なカチオンから成る群より選択される請求項1に記載のプロドラッグ。

【請求項5】 化合物の水溶解度が少なくとも5mg/mlである請求項1に記載のプロドラッグ。

【請求項6】 次式VIで表される第三級アミン含有薬剤のN-ホスホリルオキシメチルプロドラッグおよびそれらの医薬として受容可能な担体を含んでいる組成物：

【化2】



式中、 $R_1$ 、 $R_2$ および $R_3$ は親第三級アミンを含む置換基であり、 $R_4$ および $R_5$ は各々有機または無機残基であり、および $X$ はカチオン有機または無機塩である。

【請求項7】 医薬として受容可能な担体が水性である請求項6に記載の組成物。

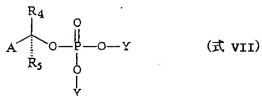
【請求項8】 組成物のpHが生理学的に受容可能なpH範囲である請求項6に記載の組成物。

【請求項9】 静脈内、経口または非経口投与のための請求項6に記載の組成物。

【請求項10】 組成物が凍結乾燥されている請求項6に記載の組成物。

【請求項11】 式VIIのプロドラッグ部分の誘導体化から成る第三級アミン含有親薬剤の可溶性プロドラッグの作製方法：

【化3】



式中、 $A$ は脱離基を表し、 $R_4$ および $R_5$ は各々有機または無機残基であり、および $Y$ はリン酸保護基であり、

第三級アミンの求核攻撃によりAの置換が起こり、続いて保護基が除去される。

。

【請求項12】 Aが塩素、臭素、ヨウ素、トシレート、フッ素、アセテート、ヒドロキシルおよびトリフィレートから成る群より選択される請求項11に記載の方法。

【請求項13】 Yが、反応性リン酸部分を一時的にブロックしおよび求核性置換反応による選択的置換を可能にするリン酸保護基である請求項11に記載の方法。

【請求項14】 Yがベンジル、第三級ブチルおよびイソプロピル、エチルおよびβ-シアノエチルから成る群より選択される請求項11に記載の方法。

【請求項15】 次式V I I Iの化合物の反応から成る第三級アミン含有親薬剤の可溶性プロドラッグの作製方法：

【化4】



式中、 $R_4$ および $R_5$ は各々有機または無機残基であり、およびWおよびZは脱離基であり、第三級アミンがWかまたはZの一つを置換し、残っている脱離基と保護されたリン酸が反応する。

【請求項16】 WおよびZは各々独立して塩素、臭素、ヨウ素、トシレート、フッ素、アセテート、ヒドロキシルおよびトリフィレートから成る群より選択される請求項15に記載の方法。

【請求項17】 化合物リン酸クロメチル ジー t e r t - ブチル。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

## 発明の分野

本発明は、脂肪族および芳香族の第二級および第三級アミンを含む薬物の水溶性誘導体に関する。本発明はさらに、脂肪族および芳香族の第二級および第三級アミンを含む薬物の水溶性誘導体の製造方法に関する。

## 【0002】

## 発明の背景

多くの薬物は、それらの最大療法効力の達成に対する障壁となる好ましくない物理化学的性質をもつ。プロドラッグの形成は、薬物のこれらの物理化学的性質を一時的に修飾するために薬物を化学的に修飾する手段を提供する。こうしてプロドラッグは本来の障壁を克服し、親薬物に戻って、その薬物の作用部位で受容体と相互作用し、薬理学的応答を引き出すことができる(図1)。

## 【0003】

第二級および第三級アミンは、低いpH値では妥当な溶解性をもつが、生理的pH値付近では不溶性になる傾向を示すことがしばしばある。第三級アミンの親剤形を配合するための従来法は、生理的でないpH条件(低いpH)および/または普通でない非水性補助溶媒の添加、ならびにシクロデキストリンおよび界面活性剤の使用を伴う。これらの従来法は、親薬物単独ではみられない二次的な毒性を伴う場合がしばしばある。

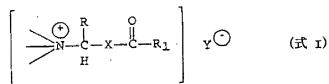
## 【0004】

第三級アミンはそれらの誘導体化により第四級アンモニウム化合物が生成するという点で、異例である。ところが第三級アミンの単純なアルキル化により得られる第四級塩はきわめて安定であり、容易にはその親の第三級アミンに戻らず、これによりそれらのプロドラッグとしての適性が制限される。さらに、第四級アンモニウム化合物をプロドラッグとして用いる場合、それらはかなり毒性をもつ可能性があり、したがって親の第三級アミンに速やかに変換するという要件が必須である。Bodor(米国特許第4,160,099号;米国特許第4,264,765号;米国特許第4,061,722号;Bodor, N. 1981;

Bodor, N. et al., 1980 (a); Bodor, 1984; Bodor, N. et al., 1980 (b)) は、式 I に示す一般構造をもつ一群の不安定第四級アンモニウム塩を開発した。

【0005】

【化5】



【0006】

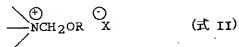
この構造において、RおよびR<sub>1</sub>は、それぞれ水素、アルキルまたはアリールを表し；Xは酸素または硫黄であり；Yはハロゲンである。これらの化合物は加水分解して親の第三級アミン、アルデヒド(RCHO)、カルボン酸(R<sub>1</sub>COXH)およびHXを生じる。この方法の利用には、緩やかな第四級殺菌薬、抗緑内障薬、抗コリン作動薬、および抗腫瘍薬の製造が含まれる(Hammer et al., 1993; Bodor, N. and Kaminski, J., 1980; Bodor, N., 1977)。

【0007】

Vinogradovaらは、異なる薬理作用群の薬物を表す各種化学構造の多様な第三級アミンを用いて、第三級アミンのプロドラッグについて調べた(Vinogradova, N. et al., 1980)。Vinogradovaらのプロドラッグの一般構造を式IIに示す。この式中、Rはアルキルまたはアシルであり、Xはハロゲンである。

【0008】

【化6】

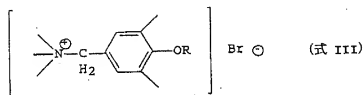


【0009】

第三級アミンのプロドラッグの他の例は、式 I I I の不安定第四級塩 (R は H、 $\text{CH}_3$  または  $\text{CH}_3\text{CO}$  を表す) を含む Bogardus らのものである (Bogardus, J. et al., 1982)。

【0010】

【化7】



【0011】

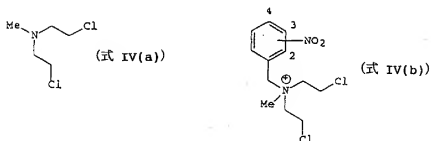
しかし、分解後にキノンメチド中間体が生成する可能性があることにより、毒性のためこのプロドラッグは臨床用としては除外されるであろう。

【0012】

Ter cel らは、式 IV (a) および (b) に示すナイトロジェンマスタード系抗癌薬メクロルエタミンの第三級アミンプロドラッグを提唱した。式 IV (a) は親薬物メクロルエタミンを示し、式 IV (b) は提唱された低酸素症選択性第三級アミンプロドラッグを示す (Ter cel, M. et al., 1993)。

【0013】

【化8】



【0014】

メクロルエタミンのプロドラッグのニトロベンジルプロ部分 (promoiety) は、主に新規な群の低酸素症選択性細胞毒として設計された。このプロド

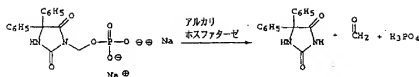




ゼの存在下で分解して、反応経路 I に示すように親薬物であるホルムアルデヒドおよび無機ホスフェートになる。

【0018】

【化10】



反応スキーム I

【0019】

このプロ部分の2回目の使用は欧州特許出願公開第0 604, 910A1号にGollikらにより示された。この研究者らは、タキサン分子の2'-および7-位のアルコールにおいて誘導体化したプロドラッグを記載した。これらのプロドラッグは、タキソールの低い水溶性を改良する試みで作られた。このプロドラッグもアルカリホスファターゼの存在下で分解して、親のタキサン誘導体、ホルムアルデヒドおよび無機ホスフェートになる。しかしVariaおよびStellaもGollikらも、この手法をアミン系薬物には適用していない。

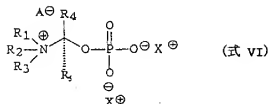
【0020】

#### 発明の概要

本発明は、次式VIの第二級および第三級アミン含有薬物のN-ホスホリルオキシメチルプロドラッグに関する：

【0021】

【化11】



(式 VI)

【0022】

式中、 $R_1$ 、 $R_2$ および $R_3$ は親の第二級または第三級アミンを含む置換基であり、 $R_1$ 、 $R_2$ または $R_3$ のうちの1つは水素であってもよく、 $R_4$ および $R_5$ はそれぞれ水素、または有機もしくは無機の残基である。

【0023】

$R_4$ および $R_5$ の例には以下のものが含まれるが、これらに限定されない：

i) 直鎖脂肪族基、たとえば $-CH_3$ 、 $-CH_2CH_3$ など；

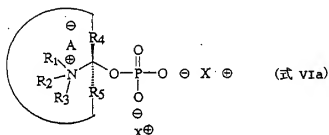
ii) 任意の芳香族または環式置換基、たとえばフェニル、ベンジル、シクロヘキサンなど；

iii) i) と ii) の任意の組合わせ；追加の官能基および／または異種原子を含むか、または含まない。

$R_4$ および $R_5$ の置換基は同一でも異なってもよい。これら2つの置換基が化学結合により連結して完全な環を形成し、式VIaとなってもよい：

【0024】

【化12】

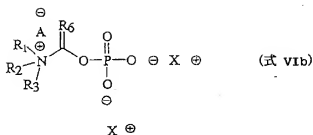


【0025】

あるいは炭素スパーサーが $R_6$ で表される部分に二重結合していてもよい。置換基 $R_6$ は、上記の例 i)、ii) または iii) のいずれであってもよい。この構造を式VIbに示す：

【0026】

【化13】



【0027】

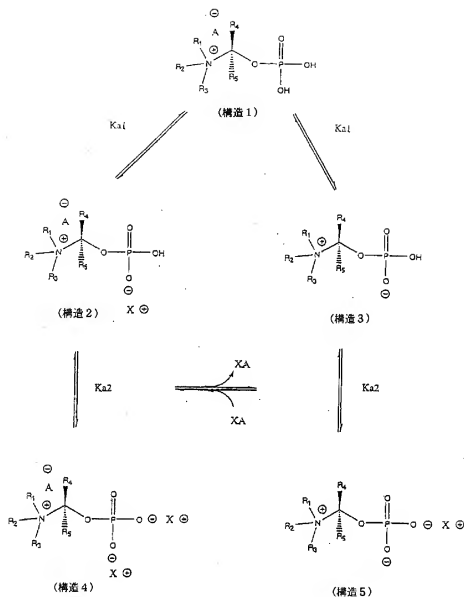
Xは医薬的に許容できるカチオン性の有機塩または無機塩である。

【0028】

式VI、VIaおよびVIbはすべて、第四級アミン中心に付随する外部アニオン(A)およびホスフェート二重アニオン電荷に付随する外部カチオン(X)をもつ。本発明は、第四級アンモニウム中心のカチオン電荷がホスフェートから生じるアニオン電荷の1つと内部的にバランスがとれた化合物をも包含する。プロドラッグが内部塩の形をとる能力は、親の第三級アミンの構造および電荷に依存すると思われる。これについての説明を以下に示す。構造1はきわめて低いpHで存在できる(pH < pKa1)。このpH範囲では構造1のみが存在できる(たとえば他の塩は生成しない)と思われる。このホスフェートモノエステルの第1pKaは約1であると推定される。構造2および3は、3付近のpHで可能な塩形である。構造4および5は、生理的pHおよびそれより高いpHで可能な塩形であろう。本明細書の各式は外部塩形で示されるが、本発明は内部塩形も包含する。

【0029】

【化14】



【0030】

本発明はさらに、第二級または第三級アミン含有薬物のN-ホスホリルオキシメチルプロドラッグを含有する医薬組成物に関する。

【0031】

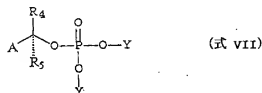
本発明の他の目的は、水性の医薬用キャリアーに可溶性であり、かつ有害な副作用の低い、第二級または第三級アミン含有薬物のN-ホスホリルオキシメチルプロドラッグを提供することである。

【0032】

本発明はさらに、第二級および第三級アミンを含む親薬物の可溶性プロドラッグを製造するための第1方法であって、式VIIのプロドラッグ部分

【0033】

【化15】



【0034】

(式中、Aは脱離基を表し、R<sub>4</sub>およびR<sub>5</sub>はそれぞれ前記の有機または無機の残基であり、Yはホスフェート保護基である)を誘導体化することを含む方法に関する。本発明のプロドラッグは、第三級アミンにより求核攻撃してAを置換し、次いで保護基を除去することにより形成される。

【0035】

本発明の範囲には、第三級アミンを含む親薬物の可溶性プロドラッグを製造するための第2方法であって、次式VIIIの化合物

【0036】

【化16】



【0037】

(式中、R<sub>4</sub>およびR<sub>5</sub>はそれぞれ前記の有機または無機の残基であり、WおよびZは脱離基である)を第三級アミンと反応させてWまたはZのいずれか一方を置換し、そして残りの脱離基を保護されたホスフェート塩と反応させる方法も含まれる。

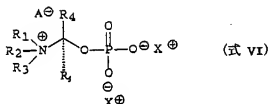
【0038】

## 発明の詳細な説明

本発明は、生体内可逆性 (bioreversible) 誘導体化により形成された、第二級および第三級アミンのプロドラッグに関するものであり、溶媒を添加する必要なしに生理的 pH 範囲で改良された水溶性および良好な化学物質安定性をもつプロドラッグが得られる。本発明化合物の一般プロドラッグ構造を式 VI に示す。

【0039】

【化17】



【0040】

式 VI は、本発明の第二級および第三級アミン含有薬物の N-ホスホリルオキシメチルプロドラッグの一般構造を示し、式中、 $R_1$ 、 $R_2$  および  $R_3$  は親の第二級または第三級アミンを含む置換基であり、 $R_1$ 、 $R_2$  または  $R_3$  のうちの 1 つは水素であってもよい。この構造式の残りの部分がプロ部分である。 $R_4$  および  $R_5$  はそれぞれ任意の有機または無機の残基であってよい。

【0041】

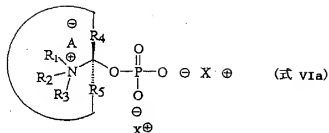
$R_4$  および  $R_5$  の例には以下のものが含まれるが、これらに限定されない：

- i) 直鎖脂肪族基、たとえば  $-CH_3$ 、 $-CH_2CH_3$  など；
- ii) 任意の芳香族または環式置換基、たとえばフェニル、ベンジル、シクロヘキサンなど；
- iii) i) と ii) の任意の組み合わせ；追加の官能基および／または異種原子を含むか、または含まない。

$R_4$  および  $R_5$  の置換基は同一でも異なってもよい。これら 2 つの置換基が化学結合により連結して完全な環を形成し、式 VI a となってもよい：

【0042】

【化18】

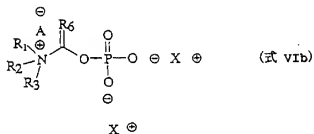


【0043】

あるいは炭素スぺーサーがR<sub>6</sub>で表される部分に二重結合していてもよい。置換基R<sub>6</sub>は、上記の例 i)、ii) または iii) のいずれであってもよい。この構造を式VIbに示す：

【0044】

【化19】



【0045】

Xは医薬的に許容できるいかなるカチオン性の有機塩または無機塩であってもよい。

【0046】

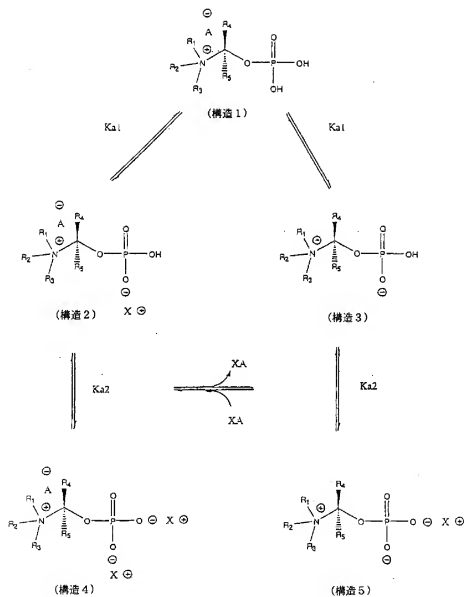
式VI、VIaおよびVIbはすべて、第四級アミン中心に付随する外部アニオン(A)およびホスフェート二重アニオン電荷に付随する外部カチオン(X)をもつ。本発明は、第四級アンモニウム中心のカチオン電荷がホスフェートから生じるアニオン電荷の1つと内部的にバランスがとれた化合物をも包含する。プロドラッグが内部塩の形をとる能力は、親の第三級アミンの構造および電荷に依存すると思われる。これについて説明を以下に示す。構造1はきわめて低いpH



で存在できる ( $pH < pK_{a1}$ )。この  $pH$  範囲では構造 1 のみが存在できる (たとえば他の塩は生成しない) と思われる。このホスフェートモノエステルの第 1  $pK_a$  は約 1 であると推定される。構造 2 および 3 は、3 付近の  $pH$  で可能な塩形である。構造 4 および 5 は、生理的  $pH$  およびそれより高い  $pH$  で可能な塩形であろう。本明細書の各式は外部塩形で示されるが、本発明は内部塩形も包含する。

【0047】

【化20】



## 【0048】

本発明のプロドラッグが自明でない性質は2つある。本発明の誘導体が自明でない第1の性質は、イオン性である。前記のように、第四級アンモニウム中心を含む分子は一般にかなり毒性である可能性がある。しかし本発明化合物については、結合したプロ部分が最高2個の負電荷をもつことができ（環境のpHに応じて）、その1つがプロドラッグ分子に含まれる正に荷電した第四級中心を遮蔽するように作用しうる。身体がこのプロドラッグをもはや第四級アンモニウム化合物と認識して処理することはないので、これにより潜在毒性が低下すると考えられる。第2に、第四級アンモニウムプロドラッグを製造するために第二級または第三級アミンのアルキルホスフェート誘導体について記載した者はいない。アルコール類、カルボン酸、ならびに第一級および第二級アミンなどの官能基を可逆的に化学修飾することは研究者が一般に行うことであったが、これらの官能基は分子内に存在しないか、またはこれらの基の化学修飾は困難である場合がしばしばあった。第三級アミン基は誘導体化できる官能基として注目されることがあったとしてもわずかであった（前記を除く）。第三級アミン含有薬物が広くかつ重要な薬物カテゴリーであるという事実を考慮すると、これは意外である。

## 【0049】

本発明に適した医薬用キャリアーには、薬物またはプロドラッグを投与するのに有用な任意の水性キャリアーが含まれる。無毒性であり、他の点では不活性であり、医薬的に許容でき、かつプロドラッグと適合性であるものが好ましい。特に有用なものは、緩衝塩類をベースとするキャリアーである。本発明の組成物は、他の有効成分、たとえば抗微生物薬、および他の薬剤、たとえば保存薬をさらに含むことができる。

## 【0050】

本発明組成物は一般に注射用配合物として調製されるが、非経口配合物に限定されない。本発明組成物は血管外配合物、たとえば経口、筋肉内および皮下投与剤形でも使用できる。医薬として有効な本発明の薬物またはプロドラッグは、一般に0.1~1000mg/ml、好ましくは1~100mg/ml、より好ましくは2~50mg/mlの濃度で存在する。本発明組成物はさらに、生理学的

に許容できるpH範囲で配合される。本発明組成物のpHは4.5～9.5、好ましくは6.5～8.5、より好ましくは7.4～8.0である。本発明はさらに、適切な緩衝剤を含有してもよい凍結乾燥形態のプロドラッグに関する。適切な緩衝液または水に溶解すると適切な1回量が得られるように、1回量バイアル中でプロドラッグを凍結乾燥することもできる。

#### 【0051】

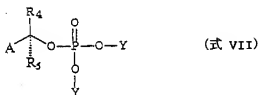
本発明のプロドラッグは固体剤形であってもよい。固体剤形は、錠剤、乾燥散剤または顆粒剤としてであってもよい。固体剤形は、適切な結合剤またはコーティング剤を含有してもよい。

#### 【0052】

本発明はさらに第三級アミンプロドラッグの製造方法に関する。プロドラッグを合成するための1方法は、式VIIで表される一般式の誘導体化剤を用いる。

#### 【0053】

#### 【化21】



#### 【0054】

式VIIについて、Aは脱離基を表す。式VIIに示した脱離基は、2分子結合反応において求核性第三級アミン基で置換される基である。この反応の速度は、他の多数の要因のうち特に、置換されるこの基の脱離能に感受性である。脱離基は幾つかのタイプのものであってよい。適切な脱離基の例にはトシラート、トリフラート、ヨウ素、臭素、塩素、フッ素、アセテート、ヒドロキシルなどが含まれるが、これらに限定されない。さらに、適切な脱離基についての考察およびその例は、Hatshorn, S. R., Aliphatic Nucleophilic Substitution, ケンブリッジ (英国), ユニバーシティー・プレス, 1973にみることができる。

#### 【0055】

R<sub>4</sub>およびR<sub>5</sub>は、任意の有機または無機の残基を表す。

【0056】

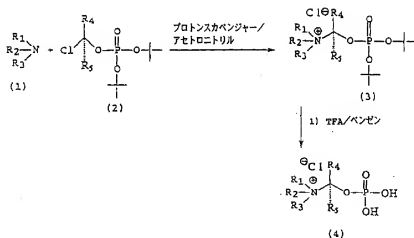
Yはホスフェート保護基を表す。ホスフェート保護基は、前記の求核置換反応を選択的に行うために反応性ホスフェート部分を一時的に遮断するのに用いられる基である。ホスフェート保護基は、この反応が完了した後に選択的に除去できないなければならない。ホスフェート保護基の例には $t$ -ブチル、ペンジル、イソブロピル、エチル、 $\beta$ -シアノエチルなどが含まれるが、これらに限定されない。さらに、適切なホスフェート保護基についての考察は、McOmie, J. F. W., Protective Groups in Organic Chemistry, ロンドンおよびニューヨーク、プレナム・プレス、1973、ならびにGreen, T. W., Wuts, G. M., Protective Groups in Organic Synthesis, 第2版, ニューヨーク、ワイリー、1991にみることができる。

【0057】

反応経路IIに示したプロドラッグ合成は、第三級アミンにより求核攻撃してAを置換することを伴う。次いで保護基を除去してプロドラッグを得る。

【0058】

【化22】



(反応スキーム II)

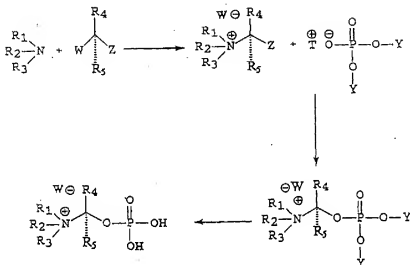
【0059】

プロドラッグの製造について、第2に提案される方法は、以下の反応スキーム

III:

【0060】

【化23】



(反応スキーム III)

【0061】

に示される。

【0062】

反応スキーム IIIにおいて、 $R_1$ 、 $R_2$ 及び $R_3$ は、母体第3又は第2アミンを構成する置換基である。 $R_4$ 及び $R_5$ は、先に記載した有機又は無機の残基のいずれであることもできる。 $W$ 及び $Z$ は、脱離基であって；同一であってもよく、又反応性において異なってもよい。脱離基 $W$ 及び $Z$ は、二分子結合反応において、求核性第3アミン基によってそれぞれ置換される基である。反応速度は、他の多くの因子の中で、置換される基の脱離能に敏感である。脱離基は、いくつかの型のものであることができる。適当な脱離基の例は、制約されるものではないが、トシル基、トリフィル (triflate) 基、ヨウ素基、臭素基、塩素基、フッ素基、酢酸基、ヒドロキシル基、等を含む。適当な脱離基に関する更なる考察及びその例は、Hatshorn, S. R., Aliphatic Nucleophilic Substitution, Cambridge (E

ng.), University Press, 1973に見出すことができる。  
Tは、いずれもの有機又は無機の陽イオン種である。Yは、先に記載したようにいずれものリン酸基保護基である。この方法は、保護されたプロドラッグを得るための、2段階の方法を含む。母体第3アミンは、脱離基の一つだけ(W又はZ)が置換される条件下で試薬と反応する。反応の第2工程は、保護されたリン酸塩による第2の脱離基(上記のスキームにおいてはZ)の置換を含む。プロドラッグは、次いで脱保護される。

#### 【0063】

本発明において有用であると考えられ、そして本発明の方法を使用してプロドラッグに転換してもよい第3及び第2アミン薬剤は、以下を含む。

#### 【0064】

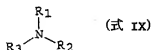
1) 脂肪族第2及び第3アルキルアミン。

#### 【0065】

アミンのこれらの型は、それぞれ窒素原子に結合した2個又は3個の有機置換基を有する。代表的な構造を以下の式IX:

#### 【0066】

【化24】



#### 【0067】

に示す。R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>及びR<sub>3</sub>は、それぞれ有機置換基を示し、又はR<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>及びR<sub>3</sub>の一つは水素を示してもよい。有機置換基は、アルキル置換第3アミンを得るために脂肪族系であることができる。R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>及びR<sub>3</sub>の有機置換基のいずれか又は全てが芳香族である場合、このアミンは、アリール置換第3又は第2アミンとして引用される。この種類の医薬化合物の例は以下の通りである:

アミオダロン、アミトリプチリン、アジスロマイシン (azithromycin)、ベンズフェタミン、プロモフェニルアミン、カビノキサミン (cabinoxamine)、クロラムブシル、クロロプロカイン、クロロキン、クロル

フェニルアミン、クロルプロマジン、シンナリジン、クラリスロマイシン (clarithromycin)、クロミフェン、シクロベンザプリン、シクロベン  
トレート、シクロホスファミド、ダカルバジン、デメクロサイクリン、ジブカイ  
ン、ジサイクロミン、ジエチルプロプリオン (diethylpropion)  
)、ジルチアゼム、ジメンヒドリナート、ジフェンヒドラミン (diphenhydramine)、ジソピラミド、ドキシセピン、ドキシサイクリン、ドキシル  
アミン、ダイピリダム (dipyridame)、EDTA、エリスロマイシン  
、フルラゼパム、ゲンチアナバイオレット、ヒドロキシクロロキン、イミプラミ  
ン、レボメタジル (levomethadyl)、リドカイン、ロクサリン (loxar  
ine)、メクロールエタミン、メルファラン、メサドン、メトチメペ  
ラジン (methotimeperazine)、メトトレキセート、メトクロ  
プラミド、ミノサイクリン、ナフチフィン (naftifine)、ニカルジピ  
ン (nicardipine)、ニザチジン (nizatidine)、オルフ  
ェナドリン (orphenadrine)、オキシブチン (oxybutin)  
、オキシテトラサイクリン、フェノキシベンザミン、フェントラミン、プロカイ  
ンアミド、プロカイン、プロマジン、プロメタジン、プロバラカイン、プロボキ  
シカイン、プロボキシフェン、ラニチジン (ranitidine)、タモキシ  
フェン、テルビナフィン (terbinafine)、テトラカイン、テトラサ  
イクリン、トラナドール (tranadol)、トリフロプロマジン、トリメブ  
ラジン、トリメチルベンザミド、トリミプラミン、トリベレナミン、トロレアン  
ドマイシン、ウラシルマスタード (uracil mustard)、及びペラ  
バミル。

【0068】

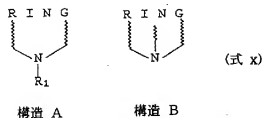
## 2) 窒素を含む複素環。

【0069】

アミンのこの型は、芳香族系又は非芳香族系のいずれかに分類することができ  
る。三種類の非芳香族系複素環が存在することができる。一つの型は、 $sp^2$  混  
成軌道窒素を含み、他の二つは  $sp^3$  混成軌道窒素を有する。二つの  $sp^3$  混成軌  
道複素環を以下の式 X :

【0070】

【化25】



【0071】

に示す。

【0072】

式Xにおいて、示された環は、炭素原子のみで構築されていてもよく、又は炭素以外の原子を含んでいてもよい； $R_1$ はいかなる有機置換体であってもよく（構築物A）、又は、この置換基は別個のしかし結合する環の一部であることができる（構築物B）。この型の医薬化合物の例は以下の通りである：

アクラビスチン (acravistine)、アモキサピン、アステミゾール (astemizole)、アトロピン、アジスロマイシン (azithromycin)、ベンザプリル (benzapril)、ベンズトロピン、ペペリデン (biperiden)、ブプラカイン (bupracaine)、ブプレノルフィン、ブスピロン、ブトルファノール (butorphanol)、カフェイン、セフトリアキソン (ceftriaxone)、クロルプロマジン、シプロフロキサチン (ciprofloxacin)、クラダラビン (cladarabine)、クレマスチン、クリンダマイシン、クロファジミン、クロザピン、コカイン、コデイン、シプロヘプタジン、デシプラミン、ジヒドロエルゴタミン、ジフェニドール、ジフェノキシラート、ジピリダモール、ドキサプラム、エルゴタミン、ファムシクロビル (famciclovir)、フェンタニール、フラボキセート、フルダラビン (fludarabine)、フルフェナジン、フルバスタチン (fluvastatin)、ガンシクロビル (ganciclovir)、グラニステロン (granisteron)、グアネチジン (guanethidine)、ハロペリドール、ホマトロピン、ヒドロコドン、ヒドロ



モルホン、ヒドロキシジン、ヒヨスチアミン、イミプラミン、イトラコナゾール (itraconazole)、ケテロラック (ketorolac)、ケトコナゾール、レボカルブスチン (levocarbustine)、レボルホン (levorphone)、リンコマイシン、ロメフロキサシン (lomefloxacin)、ロベラミド、ロサルタン (losartan)、ロクサビン、マチンドール、メクリジン、メペリジン、メピパカイン、メソリダジン (mesoridazine)、メスジラジン (methdilazine)、メテナミン、メチマゾール、メトリメブラジン、メチセルギド (methysergide)、メトロニダゾール、ミノキシジル、マイトマイシンC、モリンドン、モルヒネ、ナフゾドン (nafzodone)、ナルブフィン、ナリジクス酸、ナルメフェン (nalmefene)、ナロキソン、ナルトレキソン、ナファゾリン、ネドクロミル (nedocromil)、ニコチン、ノルフロキサシン、オフロキサシン (ofloxacin)、オンドانسテロン (ondansetron)、ヒドロキシコドン、オキシモルホン、ペタゾシン、ペントキシフィリン、パーフェナジン、フィソスチグミン、ピロカルピン、ピモジド、プラモキシン、ブラゾシン、プロクロルペラジン、プロマジン、プロメタジン、キニジン、キニーネ、ラウオルフィアルカロイド、リボフラビン、リファブチン (rifabutin)、リスペリドン (risperidone)、ロキユロニウム (rocuronium)、スコパラミン (scopolamine)、スフェンタニル (sufentanil)、タクリン (tacrine)、テラゾシン (terazosin)、テルコナゾール (terconazole)、テルフェナジン、チオリダジン、チオチキセン、チクロジピン (ticlodipine)、チモロール、トラザミド、トルメチン、トラゾドン、トリエチルペラジン (triethylperazine)、トリフルプロマジン、トリヘキシルフェニジル、トリメブラジン、トリミプラミン、ツボクラリン、ベキユロニウム、ビダラビン、ビンブラスチン、ビンクリスチン、及びビノレルビン (vinorelbine)。

【0073】

別に、複素環は、二重結合により近接する一つの原子に結合してもよく、この

場合窒素は  $sp^2$  混成軌道となる。これらの複素環は、芳香族系又は非芳香族系のいずれであってもよい。この型の複素環を以下の式XI：

【0074】

【化26】



【0075】

に示す。

【0076】

芳香族系に分類される医薬化合物の例は、以下の通りである：

アセタゾラミド、アクラビスチン (acravistine)、アシクロビル、アデノシンリン酸、アロプリナール (allopurinol)、アルブラゾラム、アモキサピン、アムリノン (amrinone)、アブラクロニジン (apraclonidine)、アザタジン、アズトレオナム (aztreonam)、ピサコジル、ブレオマイシン (bleomycin)、プロモフェニルアミン、ブスピロン、ブトコナゾール (butoconazole)、カルビノキサミン、セファマンドール (cefamandole)、セファゾール (cefazole)、セフィキシム (cefixime)、セフメタゾール (cefmetazole)、セフォニシド (cefonicid)、セフォペラゾン (cefoperazone)、セフォタキシム、セフォテタン (cefotetan)、セフポドキシム (cefpodoxime)、セフトリアキソン (ceftriaxone)、セフアピリン、クロロキン、クロルフェニルアミン、シメチジン、クラダラビン (cladarabine)、クロトリマゾール、クロキサシリン、ジダノシン、ジビリタモール、ドキサゾシン (doxazosin)、ドキシルアミン、エコナゾール (econazole)、エノキサシン (enoxacin)、エスタゾラム (estazolam)、エチオナミド、ファミシクロビル (famciclovir)、ファモチジン (famotidine)

)、フルコナゾール (fluconazole)、フルダラビン (fludarabine)、薬酸、ガンシクロビル (ganciclovir)、ヒドロキシクロキシン、ヨードキノール、イソニアジド、イトラコナゾール (itraconazole)、ケトコナゾール、ラモトリジン (lamotrigine)、ランソプラゾール (lansoprazole)、ロルセタジン (lorcetadine)、ロサルタン (losartane)、メベンダゾール、メルカプトブリン、メトトレキセート、メトロニダゾール、ミコナゾール、ミダゾラム (midazolam)、ミノキシジル、ナフゾドン (nafzodone)、ナリジクス酸、ナイアシン、ニコチン、ニザチジン (nizatidine)、オメペラゾール (omeperazole)、オキサプロジン (oxaprozin)、オキシコナゾール (oxiconazole)、ババベリン、ペントスタチン (pentostatin)、フェナゾピリジン、ピロカルピン、ピロキシカム (pilocicam)、プラゾシン、プリマキン、ピラジナミド、ピリメタミン、ピロキシジン (pyroxicline)、キニジン、キニーネ、リバベリン (ribaverin)、リファンピン、スルファジアジン、スルファメチゾール、スルファメトキサゾール、スルファサラジン、スルファソキサゾール (sulfasoxazole)、テラゾシン (terazosin)、チアベンダゾール、チアミン、チオグアニン、チモロール、トラゾドン、トリアムプテレン (triampterene)、トリアゾラム、トリメタジオン、トリメトブリン、トリメトレキセート (trimetrexate)、トリプレナミン (triplenamine)、トロピカミド、ピダラビン。

【0077】

非芳香族系又は環状イミン官能基を含む医薬化合物の例は、以下の通りである：

アロプリナール (allopurinol)、アルブラゾラム、アステミゾール (astemizole)、カフェイン、カプリオマイシン (capriomycin)、クロルアザパレート (chlorazapate)、クロルジアゼポキシド (chlordiazepoxide)、クロルチアジド (chlorthiazide)、クロナゼパム、クロザピン、ダカルバジン、ダクチノマイシ

ン、ジアゾキシド、エスタゾラム (estazolam)、ファムシクロビル (famciclovir)、フルラゼパム、薬酸、グラニステロン (granisteron)、ハラゼパム (halazepam)、ロラゼパム、ロクサピン、マチンドール、ミダゾラム (midazolam)、オンダンステロン (ondansteron)、オキシゼパム、オキシメタゾリン (oxymetazoline)、ペモリン、ペントスタチン (pentostatin)、ペントキシフィリン (pentoxifylline)、フェントラミン、クアゼパム、リボフラビン、リファブチン (rifabutin)、リスベリドン (risperidone)、テマゼパム、テトラヒドロラズリン (tetrahydrazoline)、トラゾリン、トリアゾラム、ピダラビン、キシロメタゾリン。

【0078】

3) アゾ化合物。

【0079】

これらの化合物は、以下の式XII：

【0080】

【化27】



【0081】

に示した一般構造を有する。

【0082】

式XIIにおいて、 $R_1$ 及び $R_2$ は、いかなる有機置換基でもあることができる。この型の医薬的化合物の例は、フェナゾピリジン及びスルファサラジンである。

【0083】

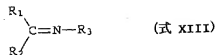
4) イミンを含む薬剤。

【0084】

アミンのこの型は、以下の式XIII：

【0085】

【化28】



【0086】

で代表される。

【0087】

式XIIIにおいて、 $\text{R}_1$ 及び $\text{R}_2$ は、水素又はいかなる型の有機置換基のいかなる組み合わせでもであることができる。 $\text{R}_3$ は、いかなる型の有機置換基であることもできる。 $\text{R}_1$ 及び $\text{R}_2$ が有機置換基の場合、これらは別個の基であることができ、或いは一緒に環を形成することもできる。この分類に入る医薬的化合物の例は、以下の通りである：

セフィキシム (cefixime)、シメチジン、クロファジミン、クロニジン、ダントロレン、ファモチジン (famotidine)、フラゾリドン、ニトロフラントイン、ニトロフラゾン、オキシコナゾール (oxiconazole)。

【0088】

#### 実施例

プロドラッグの形成に対するメカニズム(前記の反応スキームIIに示されている)は、ハロゲン離脱基の $\text{S}_{\text{N}}2$ 型置換を介しての、リン酸クロロメチルジ-tert-ブチル(2)のメチレン基に対する元の第三アミン(1)による求核攻撃を含む。この反応の第1の工程は、大過剰のプロトンスカベンジャー(1,2,2,6,6-ペンタメチルピペリジン)の存在下で行う。プロトンスカベンジャーは主として、(2)および/または(3)の分解による生成物であるHClを捕捉するのに使用される。

【0089】

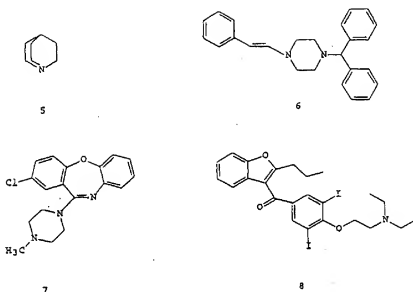
次いで、tert-ブチル保護されたプロドラッグ(3)を、分取用薄層クロマトグラフィーまたは分取用HPLCを使用して精製する。次いで、tert-ブチル保護基をベンゼン中トリフルオロ酢酸で25℃にて除去して遊離の酸を生成させる。この遊離酸は、所望する塩形態に容易に転化させることができる。

【0090】

下記の4種の化学物質(それぞれ1個以上の第三アミン基を含有している)についてプロドラッグの合成を示す。

【0091】

【化29】



【0092】

キヌクリジン(5)は反応性の高い第三アミンであるが、薬理学的には不活性であり、モデル化合物として使用される。他の3種の分子は薬物である。シンナリジン(6)は抗ヒスタミン剤であり、ロキサピン(7)は抗精神病薬であり、アミオダロン(8)は強心剤である。あとの3種の分子は、生理学的pH値における水溶性がかなり低い。シンナリジンは現在注射可能物質として製剤化されていないが、塩酸アミオダロンは静脈注射物質として使用されており、また塩酸ロキサピンは筋内注射物質として使用されている。塩酸アミオダロンと塩酸ロキサピンはいずれも、補助溶媒を使用して低めのpHにて50mg/mlの濃度で調剤されている。

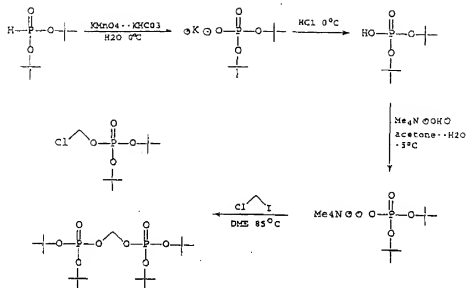
【0093】

実施例1

リン酸クロメチルジ-tert-ブチルの合成(反応スキームIV)

【0094】

## 【化30】



(反応スキーム IV)

## 【0095】

**物質** 亜リン酸ジ-*tert*-ブチルはランカスター社(ニューハンプシャー州ウィンダム)から入手できる。重炭酸カリウム( $KHCO_3$ )はフィッシャーサイエンティフィック社(ペンシルヴェニア州ピッツバーグ)から入手できる。過マンガン酸カリウム( $KMnO_4$ )はマリンクロットケミカルワークス社(ミズーリ州セントルイス)から入手でき、使用する前に微粉砕する。テトラメチルアンモニウムヒドロキシド( $(CH_3)_4NOH$ )の10重量%水溶液はアルドリッチケミカル社(ウィスコンシン州ミルウォーキー)から入手できる。クロロヨドメタンはアルドリッチケミカル社(ウィスコンシン州ミルウォーキー)から入手できる。順相シリカゲル(粒度 $32\sim 63\mu m$ )はセレクトサイエンティフィック社(ジョージア州ノークロス)から入手できる。無水のアセトニトリルとジメトキシエタンはアルドリッチケミカル社(ウィスコンシン州ミルウォーキー)から入手できる。水はすべて、全ガラス製の蒸留器にて蒸留したものを使用する。他の化学物質と溶媒はいずれも試薬グレード品であり、さらなる精製を施すことなく使用される。

## 【0096】

**方法** 亜リン酸ジ-*tert*-ブチルの対応するリン酸エステルへの転化は、Zwierz

akとKlubaによって報告されている方法(Zwierzak, A and Kluba, M., 1971)を幾分変えることによってなされる。35mlの水の中にて、亜リン酸ジ-tert-ブチル(40.36ミリモル)と重炭酸カリウム(24.22ミリモル)とを混合する。本溶液を氷浴中で攪拌し、過マンガン酸カリウム(28.25ミリモル)を三等分して1時間に加える。この反応を室温でさらに30分続ける。反応混合物に脱色炭(600mg)を加え、反応混合物を60℃で15分加熱する。次いで反応混合物を濾過して、固体の二酸化マグネシウムを取り除く。この固体を水で数回洗浄する。濾液を1gの脱色炭と混合し、60℃でさらに20分加熱する。本溶液を再び濾過して無色の溶液を得る。この溶液に、氷浴中で効率的に攪拌しながらやや過剰の濃塩酸を徐々に加える。酸を加えることにより、リン酸ジ-tert-ブチルからの遊離酸の沈殿が起こる。次いで遊離酸を濾過し、氷冷水で洗浄する。次に、遊離酸をアセトン中に溶解し、反応混合物を塩/氷浴で冷却しつつ効率的に攪拌しながら等モル量のテトラメチルアンモニウムヒドロキシドを加えることによって、化合物を塩形態に転化させる。こうして得られる透明溶液から減圧下で溶媒を除去して7.15gの粗製物を得る。ジメトキシエタン中で還流し、室温で徐々に冷却することによって粗製物を再結晶して、6.52gの高純度生成物を得た(収率57%)。12.75ミリモルのテトラメチルアンモニウムジ-tert-ブチルホスフェートと70mlのジメトキシエタンとを混合して還流させる。25gのクロロヨードメタンを加え、1.5時間攪拌する。反応混合物を濾過し、減圧下にて濾液から過剰のクロロヨードメタンと溶媒を除去する。フラッシュカラムクロマトグラフィーにより2種の生成物を分離する。固定相は順相シリカ(30g)である。移動相は、酢酸エチル/ヘキサン [3/7(v/v)] からなる。リン酸クロロメチルジ-tert-ブチルが淡い金色の油状物(収率63%)として得られる。<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300MHz) δ 1.51(s, 12H), 5.63(d, 2H, J=14.8)。質量スペクトル (FAB+, GLY) 259(M+1)。

【0097】

## 実施例2

リン酸クロロメチルジ-tert-ブチルと第三アミンとの反応

(1) キヌクリジンプロドラッグの合成

物質 キヌクリジンはアルドリッチケミカル社(ウィスコンシン州ミルウォー



キー)から入手できる。リン酸クロロメチルジ-*tert*-ブチルは前述のように合成できる。トリフルオロ酢酸はアルドリッチケミカル社(ウィスコンシン州ミルウォーキー)から入手できる。

【0098】

**方法** キヌクリジン(0.64ミリモル)を5mlの無水アセトニトリル中に溶解する。等モル量のリン酸クロロメチルジ-*tert*-ブチルを加え、反応混合物を37℃で12時間攪拌する。減圧下にて反応混合物から溶媒を除去し、このとき5mlの無水エチルエーテルを加えて極性の生成物を沈殿させる。こうして得られる懸濁液を遠心分離にかけ、上澄み液を取り除く。この手順を3回繰り返す。固体を捕集し、これを乾燥して0.487ミリモルの保護処理されたプロドラッグ(MW369.6, 収率78%)を得る。<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300MHz) δ 1.54(s, 18H), 2.07(m, 6H), 2.27(m, 1H), 3.86(t, 6H, J=7.9), 5.36(d, 2H, J=8.4)。<sup>31</sup>P-NMR(CDCl<sub>3</sub>, 500MHz) δ -14.9704(t, J=19.5)。質量スペクトル (FAB+, GLY) 334(M<sup>+</sup>)。融点88~105℃。

【0099】

次いで、0.38ミリモルのトリフルオロ酢酸のベンゼン溶液を室温にて24時間に加えることによって*tert*-ブチル基を取り除く。減圧下にて反応混合物からTFAとベンゼンを除去して0.202ミリモルの白色固体を得る。<sup>1</sup>H-NMR (D<sub>2</sub>O, 300MHz) δ 1.97(m, 6H), 2.18(m, 1H), 3.407(t, 6H, J=7.9), 4.68(d, 2H, J=6.8)。質量スペクトル (FAB+, GLY) 222(M<sup>+</sup>)。

【0100】

(2) シンナリジンプロドラッグの合成

**物質** シンナリジンはシグマケミカル社(ミズーリ州セントルイス)から入手できる。1,2,2,6,6-ペンタメチルピペリジンはアルドリッチケミカル社(ウィスコンシン州ミルウォーキー)から入手できる。

【0101】

**方法** シンナリジン(0.616ミリモル)を、120モル%過剰のリン酸クロロメチルジ-*tert*-ブチルおよび1,2,2,6,6-ペンタメチルピペリジンと混合する。これらの反応成分を無水アセトニトリル中に溶解させる。70℃で6日間、反応を進行させる。減圧にて反応混合物から溶媒を除去してから、5mlの無水エチルエーテルを

加えて生成物を沈殿させる。こうして得られる懸濁液を遠心分離にかけ、上澄み液を除去する。この手順を3回繰り返す。分取用薄層クロマトグラフィーを使用して生成物を精製する。溶離液は塩化メチレン/メタノール(75/25)であり、0.7の $R_f$ 値を与える。モノtert-ブチル保護されたプロドラッグを白色固体(0.058ミリモル、収率8%)として単離する。 $^1\text{H-NMR}$  (アセトニトリル- $d_3$ , 300MHz)  $\delta$  1.35(s, 9H), 2.70(m, 4H), 3.39(m, 2H), 3.56(m, 2H), 4.12(d, 2H, J=7.8), 4.46(s, 1H), 5.01(d, 2H, J=8.43), 6.4(m, 1H), 6.95(d, 1H, J=15.76), 7.3(m, 15H)。質量スペクトル (FAB+, GLY) 535(M+).

#### [0102]

保護処理されたプロドラッグ(0.0048ミリモル)を0.02ミリモルのトリフルオロ酢酸のベンゼン溶液と室温で24時間混合して、tert-ブチル保護基を取り除く。減圧下で反応混合物からTFAとベンゼンを除去して0.042ミリモル(収率87%)の白色固体を得る。 $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ , 300MHz)  $\delta$  2.98(m, 4H), 3.58(m, 4H), 4.23 (d, 2H, J=7.77), 4.72(s, 1H), 4.98(d, 2H, J=6.24), 6.3(m, 1H), 7.01(d, 1H, J=15.48), 7.2-7.6(c, 15H)。質量スペクトル (FAB+, GLY) 479(M+).

#### [0103]

次いで、この遊離酸プロドラッグを等モル量の重炭酸ナトリウムの水溶液と混合し、室温で4時間攪拌することによって、遊離酸プロドラッグを定量的にモノナトリウム塩に転化させる。本溶液を凍結乾燥して白色固体を得る。 $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ , 500MHz)  $\delta$  3.04(m, 4H), 3.66(m, 2H), 3.75 (m, 2H), 4.40(d, 2H, J=7.56), 4.79(s, 1H), 5.09(d, 2H, J=5.9), 6.5-6.6(c, 1H), 7.23(d, 1H, J=15.75), 7.5-7.8(c, 15H)。 $^{31}\text{P-NMR}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ , 500MHz)  $\delta$  2.19(s)。質量スペクトル (FAB+, GLY) 479(M+).

#### [0104]

### (3) ロキサピンプロドラッグの合成

物質 ロキサピンスクシネートはリサーチパイオケミカル社(マサチューセッツ州ナティック)から入手できる。反応の前にロキサピンスクシネートを遊離塩基に転化させる。

#### [0105]

**方法** ロキサピン遊離塩基(0.61ミリモル)を、5モル過剰の1,2,2,6,6-ペンタメチルピペリジンおよび1.5モル過剰のリン酸クロロメチルジ-*tert*-ブチルと混合する。これらの反応成分を無水アセトニトリル中に溶解させる。反応容器に蓋をし、50℃で64時間攪拌する。減圧下で反応混合物から溶媒を除去してから、5mlの無水エチルエーテルを加えて生成物を沈殿させる。こうして得られる懸濁液を遠心分離にかけ、上澄み液を取り除く。この手順を3回繰り返す。次いで、分取用薄層クロマトグラフィーを使用して生成物を精製する。溶離液は塩化メチレン/メタノール(9/1)であり、0.3の $R_f$ 値を与える。モノ-*tert*-ブチル保護されたプロドラッグを白色固体(0.153ミリモル、収率25%)として単離する。 $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{O}$ , 300MHz)  $\delta$  1.46(s, 9H), 3.24(s, 3H), 3.51 (m, 2H), 3.78(m, 4H), 4.05 (m, 2H), 5.05(d, 2H, J=8.4), 7.00-7.60(c, 7H)。質量スペクトル (FAB+, NBA) 494(M<sup>+</sup>)。

#### 【0106】

保護処理されたプロドラッグ(0.153ミリモル)を0.81ミリモルのトリフルオロ酢酸のベンゼン溶液と室温で24時間混合して-*tert*-ブチル保護基を取り除く。減圧にて反応混合物からTFAとベンゼンを除去して0.114ミリモル(収率76%)の白色固体を得る。 $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ , 300MHz)  $\delta$  3.27(s, 3H), 3.4-4.2(c, 8H), 5.08 (d, 2H, J=7.23), 7.10-7.45(c, 7H)。 $^{31}\text{P-NMR}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ , 500MHz)  $\delta$  -1.77(s)。質量スペクトル (FAB+, TG) 438(M<sup>+</sup>)。  $^{13}\text{C}$ 。

#### 【0107】

#### (4) アミオダロンプロドラッグの合成

**物質** 塩酸アミオダロンはシグマケミカル社(ミズーリ州セントルイス)から入手できる。反応の前に塩酸塩を遊離塩基に転化させる。

#### 【0108】

**方法** 3mlの無水アセトニトリル中にて、アミオダロン遊離塩基(0.417ミリモル)を2モル過剰のリン酸クロロメチルジ-*tert*-ブチルおよび2モル過剰の1,2,2,6,6-ペンタメチルピペリジンと混合する。ヨウ化ナトリウム(5mg)を触媒として加える。光が当たらないよう保護しながら、反応混合物を40℃で24時間攪拌する。減圧にて反応混合物から溶媒を除去してから、5mlの無水エチルエーテルを加え

て生成物を沈殿させる。こうして得られる懸濁液を遠心分離にかけ、上澄み液を取り除く。この手順を3回繰り返す。完全にtert-ブチル保護されたプロドラッグが白色固体(0.199ミリモル、収率48%)として得られる。<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300MHz)  $\delta$  0.92(t, 3H, J=7.32), 1.3-1.85(c, 28H), 2.89(t, 2H, J=7.71), 3.88(q, 4H, J=4.38), 4.4-4.6(c, 4H), 5.47(d, 2H, J=7.41), 7.3(m, 2H), 7.49(d, 2H, J=8.15), 8.21(s, 2H)。<sup>31</sup>P-NMR(CDCl<sub>3</sub>, 500MHz)  $\delta$  -12.34(t, J=17.2)。質量スペクトル (FAB+, NBA) 868(M+).

【0109】

保護処理されたプロドラッグ(0.17ミリモル)を0.81ミリモルのトリフルオロ酢酸のベンゼン溶液と室温で24時間混合してtert-ブチル保護基を取り除く。減圧にて反応混合物からTFAとベンゼンを除去して黄色油状物を得る。この油状物は、2モル過剰の重炭酸ナトリウムを含有する水中に溶解してナトリウム塩を形成する。次いでこの水溶液を凍結乾燥して吸湿性白色固体(定量的収率)を得る。<sup>1</sup>H-NMR (DMSO, 300MHz)  $\delta$  0.836(t, 3H, J=7.23), 0.976(m, 2H), 1.31(m, 6H), 1.68(m, 2H), 2.74(m, 2H), 3.54(m, 4H), 3.84(m, 2H), 4.36(m, 2H), 4.95(d, 2H, J=8.7), 7.22-7.65(c, 4H), 8.18(s, 2H)。<sup>31</sup>P-NMR(D<sub>2</sub>O, 500MHz)  $\delta$  4.77(s)。質量スペクトル (FAB+, NBA) 756(M+).

【0110】

### 実施例3

#### キヌクリジンプロドラッグのpK<sub>s</sub>測定

##### (1) 電位差滴定法によるキヌクリジンプロドラッグのpK<sub>s</sub>測定

0.01Mのキヌクリジンプロドラッグ水溶液を、アルドリッチケミカル社(ウィスコンシン州ミルウォーキー)から入手可能な0.1N水酸化ナトリウム容量標準溶液を含有するビュレットを使用して滴定する。NaOH溶液を0.25ml加えるごとに、校正されたコーニングpH/イオンアナライザー(コーニング社、ニューヨーク州コーニング)を使用してpHを記録する。本実験は25℃で行う。

【0111】

##### (2) <sup>31</sup>P-NMR法によるキヌクリジンプロドラッグのpK<sub>s</sub>測定

0.25ミリモルのロキサビンプロドラッグを10%v/vのH<sub>2</sub>O中D<sub>2</sub>O溶媒に溶解して総

体積10mlの原液を調製する。わずかな体積の0.1N NaOH水溶液を加え、較正済みのコーニングpH/イオンアナライザー(コーニング社、ニューヨーク州コーニング)を使用してpHを記録することによって、予測される $pK_a$ を測定するサンプルを調製する。各pH測定後に0.5mlのサンプルを原液から取り出し、通常のNMRチューブに入れ、蓋をし、25℃での分析まで凍結する。 $^{31}\text{P}$ 核に合わせて調整されているBruker AM 500MHz NMR分光光度計からのスペクトルを記録する。化学シフトの変化をpHの関数として記録する。分析の前に、 $30\% \text{H}_3\text{PO}_4$ を含有するインサートチューブを各サンプルNMRチューブ中に挿入して、プロドラッグの $^{31}\text{P}$ 化学シフトに対する内部標準として作用させる。

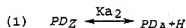
【0112】

### (3) データの解析

プロドラッグのリン酸モノエステル第2のイオン化に対する平衡は式(1)によって示される。

【0113】

【化31】



【0114】

$PD_z$ と $PD_A$ はそれぞれ、両性イオン状態のプロドラッグと正味のアニオン状態のプロドラッグを表わしている(スキーム6を参照)。 $K_{a2}$ は第2のイオン化定数を表わしており、Hは水素イオンを表わしている。両性イオン形でのプロドラッグのフラクション(fz)と正味のアニオン形でのフラクション(fa)は、下記の式(2)と(3)で示される。

【0115】

【化32】

$$(2) \quad f_z = \frac{H}{H + K_{a2}}$$

$$(3) \quad f_A = \frac{K_{a2}}{H + K_{a2}}$$

【0116】

<sup>31</sup>Pシグナルの実測化学シフト( $\delta_{obs}$ )は式(4)で示される。

【0117】

【化33】

$$(4) \quad \delta_{obs} = f_z \times \delta_z + f_A \times \delta_A$$

【0118】

$\delta_z$ と $\delta_A$ はそれぞれ、両性イオン形プロドラッグの化学シフトと正味のアニオン形プロドラッグの化学シフトを表わしている。式(2)と(3)を式(4)に代入すると式(5)が得られる。

【0119】

【化34】

$$(5) \quad \delta_{obs} = \frac{H \times \delta_z + Ka \times \delta_A}{H + Ka}$$

【0120】

シグマプロット4.14 [ジャンデル・サイエンティフィック(Jandel Scientific)]を使用して、実験結果を式(5)に曲線当てはめ(curve fit)した。

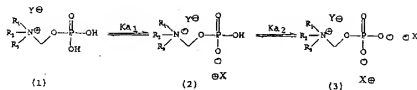
【0121】

(4) 結果

ロキサピンプロドラッグおよび前述のプロドラッグはいずれも、反応Vに示す下記のようなイオン化スキームを有し、このとき(1)は正味のカチオン帯電形であり、(2)は両性イオン形もしくは中性形であり、そして(3)は正味のアニオン帯電形である。 $Ka_1$ と $Ka_2$ はイオン化定数である。

【0122】

【化35】



(反応 v)

## 【0123】

第1のイオン化定数 $K_{a1}$ は低いと推測され、生理学的にあまり重要ではないが、 $K_{a2}$ は極めて重要である。この点を考慮に入れて、キヌクリジンのリン酸モノエステルプロモイエティ (phosphate monoester promoiety) に対する第2のイオン化定数 ( $K_{a2}$ ) を2つの方法によって測定した。これらの方法は、電位差滴定による方法と $^{31}\text{P}$ -NMRによる方法である。電位差滴定法は、 $\text{p}K_a$  値を評価する上で極めて古くから使用されている手段であるが、1つの大きな欠点を有する。すなわち、合成するのが困難な相当量のプロドラッグを必要とする。キヌクリジンプロドラッグは合成するのが極めて簡単なプロドラッグであり、このため下記のような実験に対して選択されてきた。電位差滴定法の場合、加えた塩基の体積を $\text{pH}$ の変化に対してプロットした。このプロットにより、滴定の終点に達するのに必要とされる塩基の体積を求めることができる。定義によれば、加えた塩基の体積が終点に達するのに必要とされる体積の半分に等しいポイントにおける $\text{pH}$ が、 $\text{pH}$ が $\text{p}K_a$  に等しいポイントである (Albert, A., and Serjeant, E., 1984)。電位差滴定によって得られた $\text{p}K_a$  は5.0であり、 $^{31}\text{P}$ -NMRによって得られた $\text{p}K_a$  は4.9であった。

## 【0124】

## 実施例4

ロキサピンプロドラッグの $\text{p}K_a$  測定(1)  $^{31}\text{P}$ -NMR法

0.25ミリモルのロキサピンプロドラッグを10%v/vの $\text{H}_2\text{O}$ 中 $\text{D}_2\text{O}$ 溶媒に溶解して総体積10mlの原液を調製する。わずかな体積の0.1N NaOH水溶液を加え、較正済みのコーニング $\text{pH}$ /イオンアナライザー (コーニング社、ニューヨーク州コーニング) を使用して $\text{pH}$ を記録することによって、予測される $\text{p}K_a$  を測定するサンプルを作

製する。各pH測定後に0.5mlのサンプルを原液から取り出し、通常のNMRチューブに入れ、蓋をし、25℃での分析まで凍結する。 $^{31}\text{P}$ 核に合わせて調整されているVarian XL 300MHz NMR分光光度計からのスペクトルを記録する。化学シフトの変化をpHの関数として記録する。分析の前に、 $30\% \text{H}_3\text{PO}_4$ を含有するインサートチューブを各サンプルNMRチューブ中に挿入して、プロドラッグの $^{31}\text{P}$ 化学シフトに対する内部標準として作用させる。

【0125】

### (2) データの解析

ロキサピンプロドラッグの $^{31}\text{P}$ -NMRによる $\text{pK}_a$ 測定に対するデータ解析は、実施例3におけるキスクリジンプロドラッグに関して記載したものと同一である。

【0126】

### (3) 結果

$\text{pK}_a$ は4.7であることがわかった。

【0127】

## 実施例5

### 溶解度の改良

#### (1) ロキサピン遊離塩基溶解度

ロキサピンの溶解挙動をpHの関数として研究した。ロキサピニコハク酸塩はResearch Biochemicals Incorporated (Natick, MA) から入手した。ロキサピニコハク酸塩は実験を実施する前に遊離塩基に変換された。各々のpH溶液は0.05M緩衝化溶液であり、イオン強度はNaClで $\mu = 0.2$ に調節されている。pH値ならびにそれらの組成を示す：pH 3.24、 $\text{HCl}/\text{CH}_3\text{COONa}$ ；pH 3.96および4.96、 $\text{CH}_3\text{COOH}/\text{CH}_3\text{COONa}$ ；pH 5.82-7.94、 $\text{NaH}_2\text{PO}_4/\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ；pH 8.96および9.98、 $\text{H}_3\text{BO}_3/\text{NaOH}$ 。実験で使用された緩衝液の容量は異なっている；4.96と等しいまたはそれ以下のpHを持つ試料では2mlの緩衝液が使用され、一方、より高いpH試料では5mlの容量である。その容量の緩衝液を含んでいるバイアルに過剰のロキサピン遊離塩基を加える。バイアルに栓をし、超音波処理してボルテックスにかけた後、25



℃の恒温振盪水浴に沈める。試料は100振り/分の速さで少なくとも24時間振盪する。その後、飽和溶液から遠心分離(5を超えるpHを持つ試料)または $0.45\mu\text{m}$  Acrodisc膜フィルター(Gelman)を通した濾過により、過剰の固形薬剤を除去する。濾液/上清液はHPLCによる定量のために適当に希釈する。ロキサピン定量のためのHPLC条件は以下のようである: Shimadzu 6A-HPLCポンプ(Shimadzu Corp., Kyoto, Japan)、Shimadzu SPD-6A UV分光光度計(Shimadzu Corp.)、Shimadzu CR601積分計(Shimadzu Corp.)および $20\mu\text{l}$ の注入ループを備えたRheodyneインジェクター(Rheodyne, Berkeley, CA)を用いて逆相HPLCが実施される。C-18逆相カラム( $150\times 4\text{mm}$ , ODS Hypersil、 $5\mu\text{m}$ 粒子径)が分析に使用される。HPLCアッセイは254nmでのUV検出を用いて実施される。移動相はアセトニトリルおよびリン酸でpH3.3に調整された25mMリン酸-カリウム水溶液から成っている。水性緩衝液には0.15%のトリエチルアミンが含まれている。有機層:水相の比は、ロキサピンプロドラッグの分析には25:75、およびロキサピン遊離塩基の分析には60:40である。流速を $1\text{ml}/\text{分}$ に設定した場合、保持時間はロキサピンプロドラッグおよびロキサピン遊離塩基について各々5分および7分である。

#### 【0128】

##### (2) ロキサピンプロドラッグ溶解度

各々のpH溶液は0.05M緩衝液を含んでおり、イオン強度はNaClで $\mu=0.2$ に調節されている。pH3緩衝液組成は $\text{HCl}/\text{CH}_3\text{COONa}$ である; 一方、pH7.4緩衝液組成は $\text{NaH}_2\text{PO}_4/\text{Na}_2\text{HPO}_4$ である。実験で使用された緩衝液の容量は $150\mu\text{l}$ である。 $1\text{ml}$ のスクリー-栓付きガラスバイアルに前記緩衝液を入れ、過剰のロキサピンプロドラッグを加える。次にバイアルに栓をし、超音波処理してボルテックスにかけた後、25℃の恒温振盪水浴に沈める。試料は100振り/分の速さで少なくとも24時間振盪する。続いて過剰の薬剤を沈殿させるため、懸濁液を微量遠心分離機にセットする。上清液

の50  $\mu$ lを逆相HPLCで定量するために適量の水で希釈する。ロキサピン定量のためのHPLC条件は以下のようである：Shimadzu LC-10ATポンプ（Shimadzu Corp., Kyoto, Japan）、Shimadzu SPD-10A UV分光光度計（Shimadzu Corp.）、Shimadzu SCL-10Aシステムコントローラー、SIL-10Aオートインジェクターおよび50  $\mu$ lの注入ループを備えたRheodyneインジェクター（Rheodyne, Berkeley, CA）を用いて逆相HPLCが実施され、積分のためのソフトウェアはクラスVPクロマトグラフィードータシステム、バージョン4.1（Shimadzu Corp.）である。C-18逆相カラム（150 x 4 mm, ODS Hypersil, 5  $\mu$ m粒子径）が分析に使用される。HPLCアッセイは254 nmでのUV検出を用いて実施される。移動相はアセトニトリルおよびリン酸でpH 3.8に調整された25 mMリン酸-カリウム水溶液から成っている。水性緩衝液には0.15%のトリエチルアミンが含まれている。有機層：水相の比は32：68である。流速を1 ml/分に設定した場合、保持時間は4.2分である。

#### 【0129】

#### （3）結果および考察

新規プロドラッグ法に臨床的有用性を持たせるためには、プロドラッグは生理学的に受容可能なpH範囲で適切な水溶解性を持っていなければならない。記載されたプロドラッグ法での溶解度増大の研究において、以下の節ではロキサピン遊離塩基の溶解度挙動とロキサピンプロドラッグの挙動が比較されるであろう。ロキサピン遊離塩基は固有の溶解度を持っており、それは12.6  $\mu$ g/mlであることが実験的に決定された。ロキサピンのpH-溶解度プロファイルは図2に示されている。黒丸は実験的に決定された溶解度を示している。実線は曲線の当てはめにより得られた溶解度プロファイルの理論的プロットである。白丸はロキサピン塩固有の溶解度を示している。

#### 【0130】

溶解度はpHを低くするにつれて上昇する。もし分子上に他の酸性または塩基性官能性が存在しないとすれば、この挙動は塩基性薬剤に典型的なものであ

る。溶解度はpHを低くするにつれて増加し始め、第三級アミン塩固有の溶解度が達成されるまで増加を続けるであろう。溶解度挙動は塩基性官能基のpKaの関数である。この溶解度プロファイルから曲線当てはめ法によりpKaが計算され、7.52であることが見いだされた。ロキサビンの現在利用可能な非経口IM注射は、ポリソルベート80 (5% w/v) およびプロピレングリコール (70% v/v) を含んだロキサビン塩酸塩として利用可能である。ポリソルベート80およびプロピレングリコールは、50 mg/mlのロキサビンと等価な濃度を達成するための共溶剤として使用されている。3.24のpHでさえも溶解度は8.23 mg/mlのみであるので、共溶剤の必要性は図2からも明らかである。

### 【0131】

プロドラッグのpKaもまた、特に溶解度挙動を評価するのに重要な定数である。pKa以下のいくつかのpH単位 (例えばpH3) において、プロドラッグは主として少なくとも両性イオン形である可溶性形で存在しなければならない。pKa以上のいくつかのpH単位 (例えばpH7.4) において、プロドラッグは主として実効陰イオン電荷を持つ形である最も水に可溶性な形で存在しなければならない (プロドラッグの実効陽イオン電荷は生理学的に重要ではなく、本明細書では考慮されない)。生理学的に適切なpH範囲における溶解度プロファイル予想を得るため、ロキサビンプロドラッグの溶解度がpH3およびpH7で測定された。二つのpH値で実験的に決定されたロキサビンプロドラッグ水溶解度は表1に掲げられている。

### 【0132】

【表1】

TABLE 1

pH	溶解度 (mg/ml)
3.0	290.5±2.9
7.4	648.2±0.6

### 【0133】

溶解度はpH値3.0および7.4で各々290.5±2.9および648.

2 ± 0.6 mg/ml であることが見いだされた。ロキサピンプロドラッグは遊離塩基と比較してロキサピン溶解度において 15,843 倍の増加を与えた。このことは前記の共溶剤を必要とせずに、非経口処方で使用されている溶解度制限を 9.7 倍緩和していることになる。これらの値ならびに pKa を用いて、理論的 pH-溶解度プロファイルが図 3 に例示されている。

【0134】

白丸は各々の pH 値で実験的に決定された溶解度である。線は弱酸の理論的溶解度プロファイルを示している。このプロットのための式は次式であり；

【0135】

【化36】

$$\log S_t = \log \left[ \frac{H}{K_2} + 1 \right] + \log S_o$$

【0136】

式中、 $S_t$  は総溶解度であり、 $H$  は水素イオンモル濃度であり、 $K_2$  はプロドラッグリン酸モノエステル官能基の第二イオン化定数であり、および  $S_o$  は弱酸固有の溶解度である。この曲線の構築において、pH 3.0 でのプロドラッグ溶解度が  $S_o$  として使用された。 $S_o$  のこの値は、決定された pKa に基づいた最少溶解度の近似値にすぎない。

【0137】

(4) 合成プロドラッグの溶解度推定

本プロドラッグはアミン含有薬剤の水性溶解度および安全性を増加させるために設計されている。各々のプロドラッグに対する予備的な視覚による溶解度推定は下記の表 2 に示されている。

【0138】

【表2】

TABLE 2

プロドラッグ名	pH 7.4 における推定溶解度 (mg/ml)
シンナリジン	>5
ロキサピン	>600
アミオダロン	>5

【0139】

## 実施例 6

選択されたプロドラッグの酵素的易変性評価

## (1) 静脈注射液の処方

静脈注射のためのシンナリジンは、pH 4.5 の 10 mM リン酸緩衝液中、12.5 mg / 10 ml (3.39 mM) の濃度で、可溶化添加剤としての 37.5 mM スルホブチルエーテル 4-パータシクロデキストリンとともに調製された。シクロデキストリン溶液 (10 ml) が最初に調製され、HCl で pH を 3.5 に調節された。シンナリジンが次に加えられ、溶液は 3 時間超音波処理され、続いて一夜攪拌された。次に NaOH で pH を 4.5 に調節され、等張性を調節するために 29 mg の NaCl が添加された。溶液は投与直前に 0.22 μM ナイロン膜フィルターを通過させた。プロドラッグ注射液は、10 ml の注射用 0.9% NaCl 滅菌溶液に 16.97 mg のシンナリジンプロドラッグを溶解することにより調製された (3.39 mM)。溶液は投与直前に 0.22 μM ナイロン膜フィルターを通過させた。

【0140】

## (2) 薬物動態評価

時間に関するシンナリジン血漿濃度の評価が 11.1 kg のオスビーグル犬で行われた。犬にシンナリジンが注射され、続いての 2 週間の洗い流し期間後、等モル量のプロドラッグ注射が行われた。投与前 (10 ml ブランク血漿) および投与後 2、6、10、20、40 分および 1、2、4、6、8、24 時間 (各々 3 ml) に試料が採取された。血液試料は腕頭静脈、伏在静脈または頸静脈から採られた。試料は 10 分間遠心分離し、1 ml の血漿が計りとられ、HPLC によるサンプリングに先だって -20℃ で凍結された。犬は実験の間通常食が与え

られ、実験日には絶食させた。

#### 【0141】

##### (3) 分析法

シンナリジンの血漿濃度は蛍光検出器を備えたHPLCにより決定された。40  $\mu$ gのメクリジン（内部標準）を含む100  $\mu$ Lのアセトニトリル-H<sub>2</sub>O（70：30、v/v）および100  $\mu$ Lの0.5M HClを1ミリリットルの各々の血漿に加えた。続いて血漿試料は30分間ボルテックスした。次に1mlの四塩化炭素を試料と混合し、さらに1分間ボルテックスした。試料を10分間遠心分離した後に四塩化炭素を取り、乾燥窒素を流して蒸発乾固させた。残渣を200  $\mu$ Lのアセトニトリル-H<sub>2</sub>O（70：30、v/v）に再溶解させた後にHPLCでサンプリングした。結果はピーク面積比から計算した。血漿1mlあたりに5.5から550 ngの範囲でシンナリジンを加え、上記の方法を用いて6点の標準曲線が得られた。高、中および低シンナリジン濃度を用いて、試験を行った日に3点校正が実施された。この校正は試料中のシンナリジン濃度定量のために使用された。

#### 【0142】

HPLCシステムはShimadzu LC-6Aポンプ（Kyoto, Japan）、Rheodyne 7125インジェクター（Cotati, CA）、Shimadzu RF-535蛍光HPLCモニター（Kyoto, Japan）、およびShimadzu CR-601積分計（Kyoto, Japan）から構成されていた。HPLC条件は以下のようである：注入量、50  $\mu$ L；流速、1.5 ml/分；260 nmで励起および315 nmで発光。固定相はC18 ODS Hypersil 逆相カラム（15 cm x 4.6 mm内径、5  $\mu$ m）であった。移動相は7対3の比のアセトニトリル-緩衝液であった。緩衝液は25 mMリン酸二水素カリウム（リン酸でpH 3.9に調節）および10 mMリン酸二水素テトラブチルアンモニウムから成っていた。これらの条件下、シンナリジンおよびメクリジンの保持時間は各々14.5および17.7分であった。

#### 【0143】

## (4) データ分析

薬物動態学的分析は、シンナリジンおよびシンナリジンプロドラッグの両方とも注射投与後の時間に対するシンナリジン血漿濃度の片対数プロットで実施された。両方の場合ともにシンナリジンの消失はSigma Plot 4.14 (Jandel Scientific)を用いて適合された3指数式により記述することができた。式は次の形を持っている： $C = A_1 e^{-\lambda_1 t} + A_2 e^{-\lambda_2 t} + A_3 e^{-\lambda_3 t}$ 、式中、 $t$ は時間である。血漿ターミナル半減期( $t_{1/2}$ )は( $t_{1/2} = 0.693 / \lambda_3$ )から計算される。静脈内注射後のゼロから無限大( $AUC_{0-\infty}$ )の、濃度対時間曲線より下の面積は式 $AUC_{0-\infty} = A_1 / \lambda_1 + A_2 / \lambda_2 + A_3 / \lambda_3$ を用いることにより見積もられた。クリアランス値( $Cl$ )は $Cl = D / AUC_{0-\infty}$ (式中、 $D$ は静脈注射量である)から計算された。分配量( $V$ )は $V = D / (\lambda_3 \times AUC_{0-\infty})$ から計算された。

【0144】

## (5) 結果

シンナリジンおよびシンナリジンプロドラッグ注射の両方とも犬において不快感または毒性の徴候は観察されなかった。シンナリジン濃度( $ng/ml$ )対時間(時間)の片対数プロットが図4および5に各々シンナリジンおよびシンナリジンプロドラッグ注射について示されている。図4はビーグル犬へ33.9ナノモルのシンナリジンを静脈内注射した後の血漿におけるシンナリジン濃度対時間の片対数プロットを示している。

【0145】

図5はビーグル犬へ33.9ナノモルのシンナリジンプロドラッグを静脈内注射した後の血漿におけるシンナリジン濃度対時間の片対数プロットを示している。

【0146】

シンナリジンおよびシンナリジンプロドラッグ注射に対するコンピューター曲線から得られた3指数式は各々 $C = 469.0 e^{-14.60t} + 198.5 e^{-1.03t} + 38.53 e^{-0.057t}$ および $C = 1476.0 e^{-18.67t} + 289.2 e^{-1.24t} + 35.9 e^{-0.055t}$ である。表3は計算された薬物動態学パラメーターを示し

ている。

【0147】

【表3】

TABLE 3

	$AUC_{0-\infty} (\mu g \cdot h / ml)$	$t_{1/2} (h)$	$Cl (L/h/kg)$	$Vd (L/kg)$
シンナリジン	900.8	12.0	1.17	21.7
シンナリジン プロドラッグ	964.1	12.6	1.17	21.2

【0148】

図4および5ならびに表1の分析から、シンナリジンプロドラッグは犬への静脈内投与により迅速におよび定量的にシンナリジンに変換されたことが推論できる。

【0149】

#### 引用文献

- Albert, A., Serjeant, E. P., The Determination of Ionization Constants. A Laboratory Manual, New York, Chapman and Hall, 1984.
- American Hospital Formulary Service, Drug Information, Bethesda, American Society of Hospital Pharmacists, 1993.
- Bodor, N.S., Labile, non-heterocyclic quaternary ammonium salt/esters as transient derivatives. U. S. Patent 4 160 099, Jul. 3, 1979.
- Bodor, N.S. and L.A. Freiberg, Salts of erythromycin A esters. U. S. patent 4,264,765, Apr. 28, 1981.
- Bodor, N.S., Selected quaternary ammonium salts of pilocarpine useful in reducing intraocular pressure in warm-blooded animals. U.S. Patent 4,061,722, Dec. 6, 1977.
- Bodor, N., Novel approaches in prodrug design. Drugs of the Future, 1981. VI(3): p. 165-182.
- (a) Bodor, N., J.J. Kaminski, and S. Selk, Soft drugs. 1. Labile quaternary



ary ammonium salts as soft antimicrobials. *J. Med. Chem.*, 1980. 23(5): p. 469-474.

Bodor, N., The soft drug approach. *Chem. Tech.*, 1984. 14: p. 28-38.

(b) Bodor, N., Woods, R., Raper, C., Kearney, P., Kaminski, J. J., Soft drugs. 3. A new class of anticholinergic agents. *J. Med. Chem.*, 1980. 23(5): p. 474-480.

Bodor, N. and J. J. Kaminski, Soft drugs. 2. Soft alkylating compounds as potential antitumor agents. *J. Med. Chem.*, 1980. 23(5): p. 566-569.

Bodor, N., Novel approaches for the design of membrane transport properties of drugs., in *Design of biopharmaceutical properties through prodrugs and analogs*, E.B. Roche, Editor. 1977, Academy of pharmaceutical sciences: Washington. p. 98-135.

Bogardus, J.B. and T. Higuchi, Kinetics and mechanism of hydrolysis of labile quaternary ammonium derivatives of tertiary amines. *J. Pharm. Sci.*, 1982. 71(7): p. 153-159.

Davidson, S. K. , et al. , N-(Acyloxyalkyl) pyridinium salts as soluble prodrugs of a potent platelet activating factor antagonist. *J. Med. Chem.* , 1994. 37(26): p. 4423-4429.

Golik, J., et al., Phosphonooxymethyl ethers of taxane derivatives. *European Patent* 0 604 910 A1, Dec. 23, 1993.

Hammer, R.H., Gunes, E., Kumar, G. N., Wu, W. M., Srinivasan, V. and Bodor, N. S., Soft drugs—XIV. Synthesis and anticholinergic activity of soft phenylsuccinic analogs of methatropine. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 1993. 1(3): p. 183-187.

Tercel, M., W.R. Wilson, and W.A. Denny, Nitrobenzyl mustard quaternary salts: A new class of hypoxia-selective cytotoxins showing very high in vitro selectivity. *J. Med. Chem.*, 1993. 36(17): p. 2578-2579.

(a) Varia, S. A., Schuller, S., Sloan, K. B., Stella, V. J. Phenytoin prodrugs III. water-soluble prodrugs for oral and/or parenteral use. *Jour*

nal of Pharmaceutical Sciences, 1984. 73(8): p. 1068-1073.

(b) Varia, S.A., Schuller, S., and Stella, V. J., Phenytyion Prodrugs IV: Hydrolysis of Various 3-(Hydroxymethyl)phenytion Esters. Journal of Pharmaceutical Sciences, 1984. 73(8): p. 1074-1079.

(c) Varia, S.A., Stella, V. J., Phenytyion prodrugs V: In Vivo Evaluation of Some Water-Soluble Phenytyion Prodrugs in Dogs. Journal of Pharmaceutical Sciences, 1984. 73(8): p. 1080-1086.

(d) Varia, S.A., Stella V. J., Pherlytyion Prodrugs VI: In Vivo Evaluation of a Phosphate Ester Prodrug of Phenytoin after Parenteral Administration to Rats. Journal of Pharmaceutical Sciences, 1984. 73(8): p. 1087-1090.

Vinogradova, N.D., S.G. Kuznetsov, and S.M. Chigareva, Quaternary ammonium salts with labile N-C bonds as drug precursors. Khim.-Farm. Zh., 1980. 14: p. 41-47.

Zwierzak, A. and M. Kluba, organophosphorus ester—*t*-butyl as protecting group in phosphorylation via nucleophilic displacement. Tetrahedron, 1971. 27: p. 3163-3170.

【図面の簡単な説明】

【図1】

プロドラッグモデルを図示したものを示す。

【図2】

ロキサビンのpH溶解度プロファイルを示す。

【図3】

ロキサビンプロドラッグの理論的pH溶解度プロファイルを示す。

【図4】

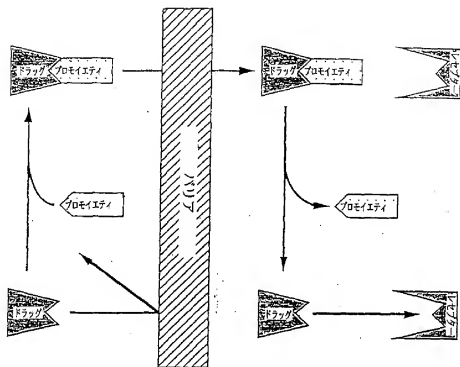
シンナリジン33.9nmolをビーグル犬に静脈内注射した後の時間に対する血漿中シンナリジン濃度の半対数プロットを示す。

【図5】

シンナリジンプロドラッグ33.9nmolをビーグル犬に静脈内注射した後

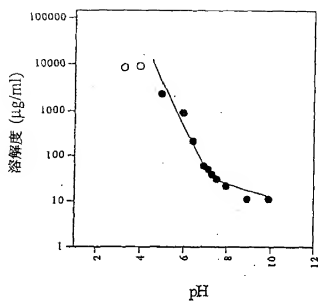
の時間に対する血漿中シンナリジン濃度の半対数プロットを示す。

【図1】



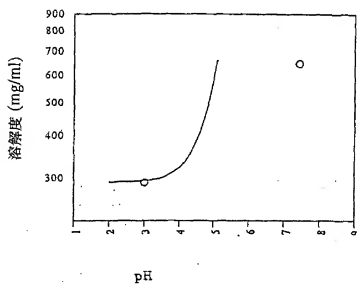
【 FIGURE 1 】

【図2】



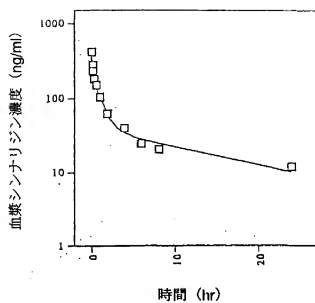
【 FIGURE 2 】

【図3】



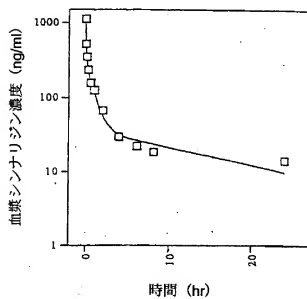
【 FIGURE 3 】

【図 4】



【 FIGURE 4 】

【図 5】



【 FIGURE 5 】

【手続補正書】

【提出日】平成13年3月7日(2001.3.7)

【手続補正1】

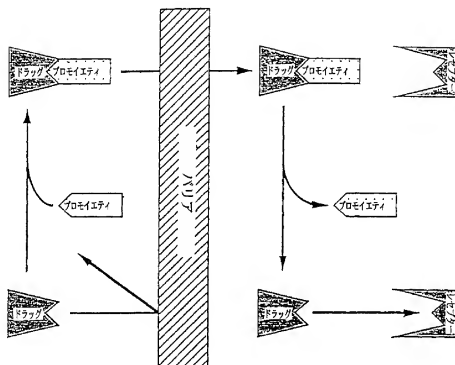
【補正対象書類名】図面

【補正対象項目名】全図

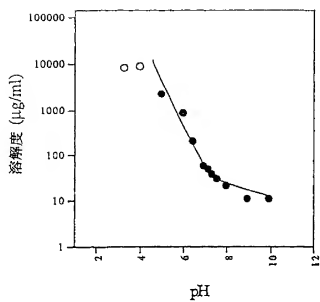
【補正方法】変更

【補正内容】

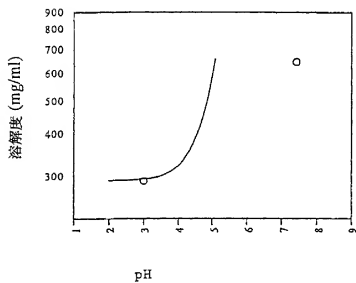
【図1】



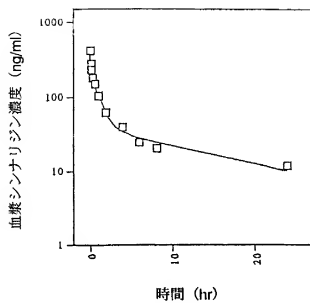
【図2】



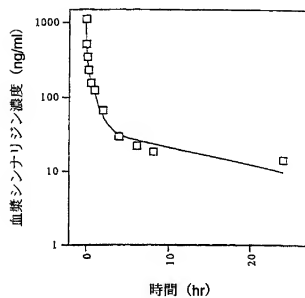
【図3】



【図4】



【図5】





## 【国際調査報告】

1

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 98/27659

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC6: A61K 31/66, C07F 9/09

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC6: A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	GB 2173788 A (LEO PHARMACEUTICAL PRODUCTS LTD. A/S), 22 October 1986 (22.10.86), page 1 - page 2, example 94 --	1-10
X	GB 2219584 A (AKTIEBOLAGET HÄSSLE), 13 December 1989 (13.12.89) --	1-10
X	EP 0279149 A2 (AKTIEBOLAGET HÄSSLE), 24 August 1988 (24.08.88) --	1-10
X	WO 9312124 A1 (AB ASTRA), 24 June 1993 (24.06.93) --	1-10

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.
 ☐ See parent family annex.

\* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"B" other documents not published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" base document published after the international filing date or priority date and not considered with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is considered with one or more other such documents, each contribution being referred to a person skilled in the art

"Z" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

Date of mailing of the international search report

4 August 1999

J 5. 08 99

 Name and address of the International Searching Authority  
 European Patent Office P.O. Box 18  
 60250 Mannheim 2  
 Germany  
 Tel: +49 (0) 621 494-3000, Telex: 6661 6661  
 Fax: +49 (0) 621 494-3016

Authorized officer

Telephone No.

(Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1992))

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 98/27659

## C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 9612725 A1 (SCHERING AKTIENGESELLSCHAFT), 2 May 1996 (02.05.96)  -----	1-10

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

I. International application No.

PCT/US 98/27659

## Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of Item 1 of first sheet)

This International Search Report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☐ Claims Nos.:  
because they relate to parts of this International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6A(a).

## Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of Item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this International application, as follows:

1. Claims : 1-10 relate to N-phosphoryloxymethyl prodrugs
2. Claims : 11-17 a method of making a soluble prodrug of a tertiary amine containing parent drug and an intermediate.

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.

1-10

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**  
 Information on patent family members

01/07/99

 International application No.  
**PCT/US 98/27659**

Patent documents cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
GB 2173788 A	22/10/86	AU 585586 B AU 544446 A BE 904368 A CA 1276640 A DE 3607382 A DK 96986 A DK 166582 B FR 2578940 A GR 850628 A IE 58870 B JP 2035933 C JP 7064813 B JP 61207374 A LU 86349 A NL 8600936 A PT 82147 A,B SE 463819 B,C SE 8600913 A US 4826987 A US 5109009 A US 5157039 A	22/06/89 18/09/86 03/09/86 20/11/90 11/09/86 09/09/86 14/06/93 12/09/86 25/06/86 17/11/93 28/03/96 12/07/95 13/09/86 02/04/87 01/10/86 01/04/86 28/01/91 09/09/86 02/05/89 28/04/92 20/10/92
GB 2219584 A	13/12/89	SE 8801907 D	00/00/00
EP 0279149 A2	24/08/88	AT 84032 T AU 612129 B AU 8330287 A CN 1023226 B DD 270531 A DE 3783356 A DK 365488 A EG 18379 A EP 0332647 A EP 0510719 A ES 2052603 T FI 892454 A GR 3007385 T IE 61178 B IL 84504 A JP 2500744 T LT 1685 A LT 3810 B LV 10954 A,B NO 173998 C PT 86186 A,B RU 206278 C SE 860499 D US 5215974 A WO 8803921 A YU 211087 A ZA 8708263 A SE 860551 D SE 8704049 D	15/01/93 04/01/91 15/06/88 22/12/93 02/08/89 11/02/93 01/07/88 30/11/92 28/09/89 28/10/92 16/07/94 19/05/89 30/07/93 09/10/94 07/10/94 15/03/90 25/08/95 25/03/96 20/12/95 02/03/94 01/12/87 27/06/96 00/00/00 01/06/93 02/06/88 31/12/88 23/05/88 00/00/00 00/00/00

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (July 1992)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT  
Information on patent family members

01/07/99

International application No.

PCT/US 98/27659

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family number(s)	Publication date
WO 9312124 A1	24/06/93	JP 397 A 14/08/95 JP 9200463 D 08/00/00 AU 665043 B 14/12/95 AU 3175293 A 19/07/93 CA 2124689 A 24/06/93 CN 1031827 B 22/05/96 CN 1073446 A 23/06/93 CZ 9401457 A 14/02/96 EP 0628049 A 14/12/94 FI 942912 A 17/06/94 FR 921400 A 31/08/94 HU 68270 A 28/06/95 HU 9401840 D 00/00/00 JP 7502503 T 16/03/95 MX 9207259 A 01/06/93 NO 942230 A 14/06/94 NZ 246220 A 27/02/96 SE 9103776 D 00/00/00 SK 73594 A 08/02/95 ZA 9208836 A 05/07/93	
WO 9612725 A1	02/05/96	DE 4439493 A	02/05/96

フロントページの続き

(81)指定国 EP(AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AP(GH, GM, KE, LS, MW, SD, SZ, UG, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZW

(72)発明者 ジグムント, ジェン

アメリカ合衆国カンザス州66045, ローレンス, ストロング・ホール 222

Fターム(参考) 4C076 AA29 BB01 BB13 CC11 CC42

DD63 FF15

4C086 AA01 AA02 AA03 DA34 MA01

MA04 MA44 MA52 MA55 NA15

ZA42

4H050 AA03 AB20